



Universidad de San Carlos de Guatemala
Dirección General de Investigación
Programa Universitario de Investigación en Ciencias Básicas

Informe final

Diversidad genética en bosques de pino de la microcuenca Río Punilá: base para elaborar planes de adaptación al cambio climático

Equipo de investigación

Coordinadora: Sara Bethsabe Barrios de León

Auxiliar de investigación I: Jonathan Mario Ortega España

Guatemala, febrero del 2021

Instituto de Investigaciones
Centro Universitario de Zacapa CUNZAC

Dr. Félix Alan Douglas Aguilar Carrera
Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador del Programa de Investigación

MSc. Carlos Augusto Vargas Galvez
Director Centro Universitario de Zacapa

Dr. Manuel Alejandro Barrios Izás
Coordinador Instituto de Investigaciones CUNZAC

Dra. Sara Bethsabe Barrios de León
Coordinador del proyecto

Jonathan Mario Ortega España
Auxiliar de investigación I

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, 2020. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores, bajo la licencia Creative Commons 4.0.

Esta investigación fue cofinanciada por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la Partida Presupuestaria B13CU-2020 durante el año 2020 en el Programa Universitario de Investigación de Ciencias Básicas

Índice

1. Resumen	Error! Bookmark not defined.
2. Palabras clave	5
3. Abstract and keyword	5
4. Introducción	6
5. Planteamiento del problema	7
6. Preguntas de investigación	8
7. Delimitación en tiempo y espacio	8
8. Marco teórico	9
9. Estado del arte	13
10. Objetivo general	15
11. Objetivos específicos	15
12. Materiales y métodos	15
13. Vinculación, difusión y divulgación	18
14. Productos, hallazgos, conocimientos o resultados:	19
15. Análisis y discusión de resultados:	25
16. Conclusiones y recomendaciones	28
17. Impacto esperado	29
18. Referencias	30
19. Apéndice	34
20. Anexos	35

Índice de tablas

Tabla 1: Medias de las características utilizadas para la identificación de las especies.....	20
Tabla 2: Número de bandas por individuo analizado.....	21
Tabla 3: Tamaños máximos y mínimos de alelos documentados por especie.....	23
Tabla 4: Parámetros obtenidos para las especies de pino analizadas.....	24
Tabla 5: Individuos con mayor número de alelos.....	25

Índice de figuras

Figura 1: Distribución espacial de individuos colectados.....	20
Figura 2: Distribución de individuos con mayor número de alelos.....	24

Diversidad genética en bosques de pino de la microcuenca Río Punilá: base para elaborar planes de adaptación al cambio climático

1. Resumen

La capacidad de adaptación de una especie es un componente clave al hacer estudios de vulnerabilidad, ya que favorece una respuesta adecuada de las especies y sus poblaciones frente al cambio climático. Dentro de esta capacidad la diversidad genética es de gran importancia, una base genética amplia permite a los diferentes genotipos existentes variar sus frecuencias y responder de manera adecuada al estrés, contrarrestando los riesgos asociados a cambios ambientales. Los objetivos del presente estudio fueron: (1) determinar la diversidad genética intra poblacional de *P. oocarpa*, *P. tecunumanii* y *P. maximinoi* en la microcuenca del río Punilá; (2) evaluar el potencial de adaptación de cada una de las especies estudiadas ante un escenario de cambio climático y (3) identificar las zonas con mayor diversidad genética de cada especie, para establecerlas como prioritarias al realizar planes de manejo y reforestación. Se realizó una descripción de la variabilidad genética existente en las poblaciones de las especies mencionadas calculando para cada una de ellas % de loci polimórficos, número total de alelos por población, número de alelos observados, número de alelos efectivos e índice de Shannon. Se encontraron valores moderados de variabilidad para dos de las tres especies ($I=0.31$; $I=34$), paralelamente se determinó que en el área la especie con mayor potencial de adaptación es *P. tecunumanii*. Adicionalmente se identificaron 14 individuos a ser priorizados como puntos de conservación y fuente de semilla al elaborar planes de manejo para la especie.

2. Palabras clave

Pinus, microsatélites, marcadores moleculares, bosques, cambio climático

3. Abstract and keyword

Adaptive response of a species is a key component when conducting vulnerability studies, since it favors an adequate response of the species and their populations to climate change. Within this

capacity, genetic diversity is of great importance, a broad genetic base allows the different existing genotypes to vary their frequencies and respond appropriately to stress, counteracting the risks associated with environmental changes. The objectives of this study were: (1) determine the intra-population genetic diversity of *P. oocarpa*, *P. tecunumanii* and *P. maximinoi* in the Punilá river micro-basin; (2) evaluate the adaptation potential of each of the studied species in the face of a climate change scenario and (3) identify the areas with the greatest genetic diversity of each species, to establish them as priorities when carrying out management and reforestation plans. A description of the genetic variability existing in the populations of the mentioned species was made, calculating for each one of them: polymorphic loci percentage, total number of alleles per population, number of observed alleles, number of effective alleles and Shannon index. Moderate variability values were found for two of the three species ($I=0.31$; $I=34$), in parallel it was determined that in the area the species with the greatest adaptation potential is *P. tecunumanii*. Additionally, 14 individuals were identified to be prioritized as points of conservation and source of seed when developing management plans for the species.

***Pinus*, microsatellite, molecular markers, climatic change, forests**

4. Introducción

El cambio climático conlleva efectos adversos importantes asociados a variables como la aparición de una mayor frecuencia y severidad de eventos extremos, ie. olas de calor, sequías, atraso en las lluvias, inundaciones, y al cambio progresivo y gradual en las condiciones climáticas de una zona, como lo son su régimen de precipitación y temperaturas medias (Feliu et al., 2015). Hasta ahora la conservación de bosques para que funcionen como sumideros de carbono es una de las principales acciones que se manejan en el contexto internacional como estrategia ante el cambio climático. Sin embargo, al tratar los bosques como un mecanismo de mitigación, no se ha tomado en cuenta el tema de la capacidad de adaptación de las especies (Magrin, 2015). Para poder funcionar como sumideros de carbono y proveer servicios de mitigación, los árboles deben estar bien adaptados a su entorno y es la variabilidad genética existente entre los individuos de una especie la que aumenta la probabilidad de la misma de sobrevivir a cambios drásticos en las condiciones climáticas.

El conocimiento y comprensión de la variabilidad genética de las especies forestales reviste gran importancia para la conservación, sustentabilidad y productividad de las mismas, ya que puede ser utilizado para evaluar la capacidad de respuesta de sus poblaciones a los cambios ambientales naturales o provocados. Se calcula que en América Latina cerca de 70 millones de personas, en su mayoría etnias indígenas, dependen de zonas boscosas, con diferentes grados de conservación, para la generación de madera, leña y otros servicios (Vilanova, 2011), por lo que mantener o incrementar la capacidad adaptativa de los bosques es vital para garantizar un flujo continuo de estos servicios para el desarrollo y bienestar social de estas comunidades. A pesar de esto, se han realizado pocos estudios que ayuden a determinar la variabilidad y riqueza alélica en los bosques y es por esto que los objetivos del presente estudio fueron: (1) determinar la diversidad genética intra poblacional de *P. oocarpa*, *P. tecunumanii* y *P. maximinoi* en la microcuenca del río Punilá; (2) evaluar el potencial de adaptación de cada una de las especies estudiadas ante un escenario de cambio climático y (3) identificar las zonas con mayor diversidad genética para cada especie, para establecerlas como prioritarias al realizar planes de manejo y reforestación.

Se realizó una descripción de riqueza alélica existente en las poblaciones de las especies mencionadas en el área de estudio, utilizando marcadores moleculares tipo microsatélite. Los microsatélites son marcadores de ADN muy utilizados en estudios de genética de poblaciones ya que permiten obtener información genética detallada tanto de poblaciones como de individuos (Enríquez, 2008; Schlötterer, 2000).

Con la información obtenida se hizo una evaluación preliminar del potencial de adaptación del bosque estudiado ante un escenario de cambio climático, por medio de la determinación de los puntos con mayor riqueza alélica de cada una de las especies estudiadas.

5. Planteamiento del problema

La capacidad de adaptación es un componente clave de la vulnerabilidad, ya que favorece una respuesta adecuada de las especies y sus poblaciones frente al cambio climático. Una parte importante de esta capacidad de adaptación la constituye la diversidad genética que posea una especie o población. Si la base genética de la misma es reducida, puede perder su capacidad para colonizar nuevas áreas o para presentar diferentes grados de tolerancia al estrés ambiental generado por los cambios en las condiciones climáticas de su entorno. La pérdida de variabilidad conduce a

los individuos a decrecer su respuesta de adecuación (supervivencia y éxito reproductivo), mientras que una base genética amplia permite a los diferentes genotipos existentes dentro de una población variar sus frecuencias y responder de manera adecuada al estrés, contrarrestando el riesgo de vulnerabilidad a factores ambientales adversos (Arzate-Fernández et al., 2016).

Los bosques de montaña son especialmente vulnerables a los cambios en las temperaturas y precipitación, ya que funcionan como islas ecológicas. En el caso de los bosques de pino, a esto se le debe sumar la intensa selección a la que se ven sometidos debido al tipo de aprovechamiento que se hace de los árboles, tanto con fines comerciales como de subsistencia. El aprovechamiento forestal tradicional, basado en características fenotípicas, ha provocado en muchas áreas del país la desaparición de los mejores ejemplares de los bosques, al tiempo que se reduce drásticamente la diversidad genética de las especies aprovechadas (Alfonso-Corrado et al., 2014), esto podría limitar la respuesta adaptativa de las especies frente a escenarios de cambio climático. Hasta el momento no se han realizado estudios en Guatemala que ayuden a determinar la diversidad genética o la composición alélica de los bosques pino, a pesar de conocerse la importancia de conocerla y utilizarla como una herramienta base en la elaboración de modelos de manejo, aprovechamiento y conservación que permitan a las especies mantener su potencial adaptativo. En el área de Guadalupe y Pinalito, municipio de Zacapa, existen bosques mixtos naturales de *Pinus oocarpa*, *Pinus tecunumanii* y *Pinus maximinoi*, los cuales han sido conservados gracias a los esfuerzos de los pobladores de las comunidades mencionadas. Sin embargo, a pesar de la importancia que poseen como potenciales recursos genéticos, hasta el momento no se han hecho evaluaciones de la composición y/o variabilidad alélica de ninguna de las tres especies en el área.

6. Preguntas de investigación

¿Cuál es el estado de la diversidad genética intrapoblacional de los bosques de pino de la microcuenca del río Punilá?

¿Qué efecto puede tener la diversidad existente sobre la capacidad de adaptación de las especies estudiadas ante escenarios de cambio climático?

¿Cómo se puede aumentar la capacidad adaptativa de las especies estudiadas?

7. Delimitación en tiempo y espacio

Delimitación en tiempo: El proyecto tuvo una duración de 11 meses, iniciando en marzo del 2020 y terminando en enero del 2021.

Delimitación en espacio: Este estudio se llevó a cabo en el bosque mixto de *P. oocarpa*, *P. tecunumanii* y *P. maximinoi* a lo largo de la microcuenca del río Punilá, abarcando el área de Guadalupe y camino a Pinalito.

8. Marco teórico

Adaptación al cambio climático

Se define vulnerabilidad como el grado en que un sistema es susceptible e incapaz de hacer frente a los efectos del cambio climático. La vulnerabilidad está formada por tres componentes: (1) Grado de exposición, que es la severidad del cambio que probablemente experimente una población o especie, (2) Grado de sensibilidad, grado en que la supervivencia y éxito reproductivo de los individuos de una población dependen del clima, y (3) Capacidad de adaptación, que es la capacidad de una especie, o de las poblaciones que la constituyen, de hacer frente al cambio climático. Esta capacidad incluye la persistencia de la especie en su lugar de origen, el potencial para ocupar microhabitats más apropiados o de migrar a regiones más favorables. En el caso de los ecosistemas, esta capacidad está fuertemente relacionada con la diversidad genética y la heterogeneidad y conectividad de los hábitats dentro de los paisajes (Bernier & Schöene, 2009; Delgado et al., 2016; Instituto de Agricultura, Recursos Naturales y Ambiente de la Universidad Rafael Landívar, 2012).

Guatemala es considerado uno de los países más vulnerables a los efectos del cambio climático, debido en parte a la rápida pérdida de cobertura forestal del país (Delgado et al., 2016). Los ecosistemas de montaña, como es el caso de los bosques de pino y de pino-encino, son especialmente vulnerables a los efectos del cambio climático debido a que los aumentos en las temperaturas harán que las condiciones climáticas propias de las cotas altitudinales superiores dejen de existir, convirtiéndose en zonas con condiciones más parecidas a las del bosque seco. Ante este escenario, se han descrito tres enfoques para orientar las acciones destinadas a adaptar los bosques al cambio climático, siendo uno de ellos la adaptación planificada (Bernier & Schoene, 2009). La cual implica que las metas de conservación y prácticas forestales son definidas anticipadamente previendo los riesgos e incertidumbres ligados al cambio climático. De este

enfoque nace la necesidad de crear instrumentos de evaluación de la vulnerabilidad y el diseño de planes de manejo y/o conservación cuyo objetivo sea aumentar o mantener la capacidad de adaptación de las especies al cambio climático (Bernier & Schoene, 2009; Delgado et al., 2016).

Las coníferas, con ocho familias, 70 géneros y cerca de 630 especies reconocidas, constituyen un grupo de gran importancia como recursos genéticos forestales a nivel mundial. Dentro de esta familia, el género *Pinus*, con alrededor de 100 especies reconocidas, es uno de los más numerosos y diversos. Se reconocen dos áreas principales de diversidad del género, la más importante en América Central (43 especies en México) y una secundaria en China (Plomion et al., 2007). Las especies de este género pueden crecer en rodales puros o en bosques mixtos, con otras coníferas o con árboles de hoja ancha (Plomion et al., 2007).

Pinus oocarpa Schiede ex Schltdl.

Esta especie se puede encontrar de manera natural desde Sonora, México hasta Nicaragua, pasando por Belice, Guatemala, El Salvador y Honduras, siendo introducida durante evaluaciones de procedencia (CAMCORE) en Brasil, Colombia, Venezuela, Costa Rica, Cuba, Jamaica, Puerto Rico, Argentina y Perú, entre otros países (Instituto Nacional de Bosques, 2017). En Guatemala, Honduras, Nicaragua y El Salvador representa la especie dominante de los bosques de pino (Cordero & Boshier, 2004). La especie forma rodales puros en muchos sitios a lo largo de su rango de distribución natural, pero se encuentra a menudo asociado con robles y otras especies de pino. Tiene amplio rango altitudinal (200-2500mSNM) alcanzando su mejor desarrollo de 600 a 1800mSNM. Crece en sitios con temperaturas entre 13 y 23 °C y precipitación de 65-2000mm, con una época seca de 5-6 meses. Es una especie pionera que se adapta a diferentes tipos de suelo, de ácidos a neutros y con buen drenaje. La especie parece estar asociada a la ocurrencia de fuegos (Cordero & Boshier, 2004). Los árboles de esta especie pueden llegar a medir entre 30 y 35m de altura con DAP 40-70 cm. Copa amplia que se reduce y vuelve cónica a medida que posee competencia (Instituto Nacional de Bosques, 2017). La corteza de los árboles maduros es gruesa y de color grisáceo a café, forma placas o planchas definidas de forma rectangular por fisuras en plano longitudinal y horizontal. Fascículos con 5 acículas, las cuales se caracterizan por ser gruesas en comparación a otras especies del género, 20-28cm de largo. Los conos se diferencian de las demás especies por tener forma ovoide, de escamas duras y tamaño variable (5-8 cm ancho x 4-7.5

cm de largo). Es característico de la especie encontrar estróbilos de dos o tres años anteriores aun sujetos a las ramas (Instituto Nacional de Bosques, 2017).

Esta especie, junto con *Pinus maximinoi* y *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, es de las especies mas utilizadas en la industria forestal en Guatemala. Se adapta muy bien al manejo de la regeneración natural, utilizándose también en plantaciones puras. Su madera es blanda, de gran versatilidad. Bien manufacturada tiene alto potencial de exportación mientras no sea para propósitos de alta exigencia, para los cuales es necesario un pino de mayor densidad. En la industria local se utiliza en la fabricación de postes, embalajes, contrachapado, juguetes, artesanías y pulpa de papel, también se usa como leña. De su resina se obtienen productos como el aguarrás y la colofonia (utilizada en la industria de los cosméticos). *Pinus oocarpa* es considerada una especie de especial interés para Guatemala, los programas de reforestación PINFOR y PINPEP promueven el uso de la especie, la cual es considerada prioritaria para establecer plantaciones forestales para la producción de madera (Cordero & Boshier, 2004; Instituto Nacional de Bosques, 2017).

Pinus maximinoi H.E. Moore

Su distribución natural va desde México hasta Nicaragua, pero se ha introducido fuera de su rango natural en Brasil, Colombia, Honduras, Sur África, Venezuela y Zimbabue. Es un árbol que crece hasta los 35m de altura con un DAP de 40 a 60 cm. Copa densa, en forma de domo, con ramas gruesas y en ángulo de 90°, simulando un crecimiento verticilado. La corteza en la base del árbol es color gris oscuro, con fisuras. A medida que se acerca a la copa la corteza adquiere un color café grisáceo. En arboles jóvenes la corteza es delgada y suave mientras que en arboles maduros es dura y gruesa. Fascículos de 5 acículas, de 20 a 35 cm de largo. Conos pequeños con escamas suaves a medida que maduran, no persisten en las ramas una vez han liberado las semillas (Instituto Nacional de Bosques, 2017). Su madera es utilizada para la fabricación de postes, artesanías, artículos torneados, carpintería en general, resina y leña, entre otras. Junto con *P. oocarpa* y *P. caribaea* var. *hondurensis*, es una de las especies mas utilizadas en la industria forestal, así como en materia de aserrío. En Guatemala se han reportado alrededor de 22,000 ha plantadas de esta especie, entre plantaciones puras y mixtas y sistemas agroforestales. Es considerada una especie de especial interés para Guatemala, los programas de reforestación PINFOR y PINPEP promueven el uso de la especie (Instituto Nacional de Bosques, 2017).

Pinus maximinoi carece de protección especial en Guatemala, debido a su amplia distribución, donde sus poblaciones naturales no han sufrido una disminución alta ni pérdida significativa de su hábitat (Instituto Nacional de Bosques, 2017). Adicionalmente, la especie posee características adecuadas de producción y calidad de semillas, regeneración natural adecuada y facilidad en el establecimiento de plantaciones (Instituto Nacional de Bosques, 2017).

Pinus tecunumanii Egulluz & J.P. Perry

Esta especie se distribuye de manera natural desde México hasta Nicaragua, pero ha sido introducida a casi todos los países de la faja tropical y sub tropical a través de ensayos internacionales. Presenta un amplio rango altitudinal (440-2800 mSNM), con ocurrencia en suelos moderadamente fértiles y profundos, ligeramente ácidos a neutros y bien drenados, con precipitaciones de 790-2200mm y temperaturas de 14 a 25°C. Los individuos pueden alcanzar alturas de hasta 55 m y DAP de 50-90 cm, presentando un fuste recto y limpio, las ramas inician a un 40-60% de su altura. Considerado el pino con mejor forma de fuste en México y América Central. Copa pequeña, compacta, cónica, con ramas delgadas y cortas. Corteza gris rojiza, áspera y fisurada en la base del fuste, lisa y rojiza en la parte superior. Acículas en grupos de 4 (3-5) de 12-25 cm de largo, mas o menos pendulosas, color verde claro. Las flores masculinas se encuentran al final de las ramitas, conos femeninos pequeños (7 x 3.5 cm) solitarios o en pares y ocasionalmente en grupos de 3 (Cordero & Boshier, 2004). Semillas puntiagudas, pequeñas, color café claro, con ala membranosa color café claro con rayas oscuras, muy quebradiza (Cordero & Boshier, 2004). Las semillas son ortodoxas y pueden almacenarse por 5-10 años a 3-4°C y 12% de humedad en recipientes herméticos. A temperatura ambiente permanecen viables por 1-2 meses. La madera es moderadamente pesada, castaño amarillento, de textura fina, grano recto. Fácil de secar, preservar y trabajar, moderadamente resistente a hongos. Para la producción de pulpa muestra propiedades similares a otros pinos tropicales. Produce resina de buena calidad (Cordero & Boshier, 2004).

Recursos genéticos forestales y marcadores moleculares

Los recursos genéticos forestales, definidos como la variabilidad genética presente en las especies de árboles de beneficio potencial o actual para los seres humanos, constituyen un recurso intergeneracional de gran importancia social, económica y ambiental. El apropiado manejo y

conservación de este tipo de recursos deben incluir tanto acciones como políticas que aseguren la existencia continuada y evolución de estos recursos. Esto implica mantener la composición genética de las especies para que pueda continuar adaptándose y evolucionando en respuesta a los cambios en su medio ambiente (Maselli, 2011).

La diversidad genética de las especies forestales, incluyendo la variación genética intra e interespecífica de las mismas es uno de los temas menos estudiados en el país (Instituto Nacional de Bosques e Instituto de Agricultura, Recursos Naturales y Ambiente de la Universidad Rafael Landívar, 2012). La diversidad genética constituye un componente clave de la biodiversidad ya que determina el potencial adaptativo de las especies. Para estudiarla, los datos moleculares constituyen una buena aproximación ya que permiten el estudio de las tendencias a largo plazo, a diferencia de los parámetros demográficos, que señalan la evolución a corto plazo (Jiménez & Collada, 2000). La aplicación de marcadores moleculares sobre individuos de una misma población permite analizar qué tan distintos son a nivel de ADN, aun cuando no sea posible detectar diferencias fenotípicas, permitiendo estimar la riqueza y variabilidad genética de las especies (Instituto de Agricultura, Recursos Naturales y Ambiente de la Universidad Rafael Landívar, 2008).

Los microsatélites, o repeticiones simples de secuencia (SSR), son secuencias de ADN constituidas por repeticiones de motivos nucleotídicos de 1 a 6 pares de bases (Vásquez-Lobo & Morales, 2014) que se distribuyen tanto en regiones codificantes como no codificantes y se caracterizan por ser altamente polimórficos. Esto los convierte en marcadores altamente efectivos para usarse a nivel poblacional. El nivel de polimorfismo encontrado en estas regiones es consecuencia de una elevada tasa de mutación que puede deberse a eventos de inserción y/o deleción durante la replicación del ADN (Schlötterer, 2000; Vásquez-Lobo & Morales, 2014). Estos marcadores se ensayan mediante la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando cebadores diseñados para acoplar secuencias flanqueantes, la técnica es confiable, reproducible y los loci son frecuentemente conservados entre especies relacionadas e incluso entre géneros. Los microsatélites son ampliamente utilizados en estudios de variabilidad genética debido a que son específicos, codominantes, selectivamente neutros y están uniformemente distribuidos en el genoma (Maselli, 2011).

9. Estado del arte

En Guatemala se pueden encontrar 10 especies del género *Pinus* distribuidas principalmente en la región montañosa del país, que se extiende desde los departamentos de San Marcos y Huehuetenango hasta Chiquimula y Zacapa (Instituto Nacional de Bosques e Instituto de Agricultura, Recursos Naturales y Ambiente de la Universidad Rafael Landívar, 2012). De éstas las más amenazadas, tanto por su restringida distribución como por su aprovechamiento inadecuado, son *P. chiapensis*, *P. ayacahuite* y *P. tecunumanii*. Los recursos genéticos del género *Pinus* son, para Guatemala, de vital importancia ya que la mayoría de sus especies tienen un alto valor comercial, ya sea en pie, para exportación o por el uso que le dan las comunidades rurales como fuente de energía, para la elaboración de artesanías, medicina, construcción, etc. A pesar de esto, los estudios que se han hecho acerca de la diversidad genética de pinos en el país son pocos y limitados a especies como *Pinus ayacahuite* (Barrios, 2004; Instituto Nacional de Bosques e Instituto de Agricultura, Recursos Naturales y Ambiente de la Universidad Rafael Landívar, 2012; Maselli, 2011), dejando de lado especies como *P. oocarpa*, que ha sido ampliamente utilizada para aprovechamiento forestal, repoblaciones y/o reforestaciones. Es el mismo caso el de *P. tecunumanii* que se encuentra catalogado como categoría 3 en el listado de especies amenazadas del Consejo Nacional de Áreas Protegidas y como VULNERABLE en la lista roja de la International Union for Conservation of Nature (UICN) (Melgar, 2003).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés), 2003, las principales amenazas para los recursos genéticos forestales de Guatemala, que han llevado a un alarmante degradación de las especies, incluyen la falta de estrategias nacionales firmes para la conservación del germoplasma forestal, el uso limitado de árboles a solo unas pocas especies (poniendo a algunas de estas especies en riesgo) y la baja apreciación hacia la importancia de los recursos genéticos forestales, que ha llevado a un aprovechamiento no sostenible de estos recursos en el país. A estas amenazas es necesario sumar los escenarios de cambio climático, que según el primer reporte de evaluación del conocimiento sobre cambio climático en Guatemala (Sistema Guatemalteco de Ciencias del Cambio climático, 2019), muestran un aumento de temperatura de entre tres a seis grados celcius y una disminución de entre 10 a 30% de las lluvias, para finales de siglo (Sistema Guatemalteco de Ciencias del Cambio climático, 2019). No existen en el país estudios que permitan evaluar la vulnerabilidad de las especies de pino ante el cambio climático, sobre la base de la diversidad genética de las mismas.

Aunque las isoenzimas fueron los primeros marcadores genéticos utilizados para el estudio de especies forestales (Furnier, 2004), actualmente los microsatélites son los más utilizados para este tipo de estudios. Los primeros microsatélites desarrollados para la evaluación de especies forestales fueron para *Pinus radiata* (Smith & Devey, 1994). Desde entonces se han desarrollado microsatélites nucleares y cloroplásticos para numerosas especies de pinos. De éstos, los microsatélites nucleares son especialmente informativos ya que permiten obtener información genética detallada de poblaciones e individuos (niveles de heterocigosis, tasas de entrecruzamiento, migración, etc), generando información útil para el manejo y conservación de especies forestales (Delgado-Valerio et al., 2019; Rebolledo Camacho, 2010). A pesar de esto, se han publicado pocos estudios del uso de este tipo de marcadores en países como México (Alfonso Corrado et al., 2014; Delgado Valerio et al., 2011, 2013; Ramírez Enríquez et al., 2019; Villalobos et al., 2014;) y ninguno en Guatemala.

10. Objetivo general

Determinar la diversidad genética intra poblacional de *P. oocarpa*, *P. tecunumanii* y *P. maximinoi* en la microcuenca del río Punilá utilizando marcadores moleculares tipo microsatélite.

11. Objetivos específicos

- Evaluar la vulnerabilidad (potencial de adaptación) de cada una de las especies estudiadas ante un escenario de cambio climático.
- Identificar las zonas con mayor diversidad genética para cada especie, para establecerlas como prioritarias al realizar planes de manejo y reforestación.

12. Materiales y métodos

12.1 *Enfoque y tipo de investigación:* la investigación fue básica y cuantitativa, se describieron parámetros de riqueza alélica y polimorfismo genético intrapoblacional de las especies *P. oocarpa*,

P. tecunumanii y *P. maximinoi*, generando de esta manera conocimientos sobre los recursos genéticos forestales del área estudiada.

12.2 *Recolección de información:* En el área estudiada es posible encontrar áreas discontinuas de bosques bien conservados, en los cuales se mezclan las tres especies estudiadas. Para el análisis genético se tomaron muestras de individuos adultos separados por al menos 50 metros de distancia, si eran de la misma especie (Anexo 1). La colecta se realizó a lo largo del camino que lleva de Guadalupe a Pinalito y dentro de parches de bosque que ha sido conservado por los pobladores en la comunidad de Guadalupe. Para la identificación en campo se utilizó una regla de 30 centímetros para medir el largo de acículas y largo y ancho de los conos. Adicionalmente se contó el número de acículas por fascículo. Estos datos se compararon con las descripciones de especie de la guía campo de los pinos de México y América Central (Farjon et al., 1997). De cada individuo identificado se tomaron las coordenadas geográficas y se colectaron alrededor de 100 g de acículas jóvenes y brotes nuevos, que se colocaron en una bolsa plástica de cierre hermético etiquetada con los datos de colecta e identificación de la especie en campo, estas muestras fueron trasladadas hasta el laboratorio de biología molecular, entomología y aguas del centro Universitario de Zacapa. Todas las muestras se almacenaron, debidamente etiquetadas, en el congelador a -20°C antes durante al menos 15 días antes de ser utilizadas, esto para asegurar una buena ruptura de las paredes celulares en el momento de realizar el macerado para la extracción de ADN.

12.3 La muestra fue tomada por conveniencia, se realizaron caminatas en las áreas trabajadas para localizar visualmente e identificar los individuos hasta especie.

12.4 *Técnicas e instrumentos:*

Extracción y purificación de ADN

Antes de llevar a cabo la extracción y purificación de ADN se pesaron 50-65 mg de acículas jóvenes cortadas con una tijera, éstas fueron colocadas en un en un mortero al cual se agregó nitrógeno líquido, las muestras fueron maceradas con un pistilo, evitando su descongelación. Para la extracción y purificación de ADN se utilizó el protocolo CTAB 2X (CTAB 2%, NaCl 5M, Tris HCl 1M, EDTA 0.5M, 1% PVP, 0.2% β mercaptoetanol) descrito por Doyle & Doyle (1990) modificado. Para verificar la integridad del ADN obtenido se corrieron geles de agarosa-TAE al 0.7%.

Amplificación de microsátélites

Se amplificaron tres microsátélites nucleares (ptTX2123, ptTX3025 y ptTX3030) que han demostrado ser polimórficos y transespecíficos para el género *Pinus* (Alfonso-Corrado *et al.*, 2014, Mendoza Ramírez, 2013).

La reacción se preparó a un volumen final de 25 µl colocando en cada tubo: 5 µl 5X green buffer (1X), 0.5 µl dNTPs (0.2mM), 0.63 µl iniciadores F y R (0.25mM), 0.12 µl Taq polimerasa (0.5U), 16.12 µl ddH₂O y 2 µl de ADN. El PCR se realizó en un termociclador Verity, de Applied Biosystems con el programa:

1. Desnaturalización inicial 95°C 10 minutos
2. 38 ciclos:
 - a. Desnaturalización 95°C 1 minuto
 - b. Hibridación 57-59 °C 1 minuto
 - c. Elongación 72°C 1 minuto
3. Elongación final 72°C 10 minutos

Para verificar la obtención de productos de PCR se corrieron geles de agarosa-TAE 1.2%. Los microsátélites amplificados fueron separados utilizando geles de poliacrilamida no desnaturizantes 6%. Para realizar la electroforesis se cargaron 10 µl de producto de PCR en cada pozo y se corrieron los geles a 140V durante 120 minutos. La tinción se realizó con nitrato de plata según el protocolo descrito por Huang *et al.*, 2018. Los geles fueron escaneados para el posterior análisis de bandas.

12.5 Operacionalización de las variables o unidades de análisis:

Objetivo 1: Determinar la diversidad genética intra poblacional de *P. oocarpa*, *P. tecunumanii* y *P. maximinoi*

Forma en que se midió: Análisis de los patrones de bandas obtenidos para cada uno de los microsatélites amplificadas. Para realizar este análisis se midió el peso de las bandas (alelos) obtenidos para cada uno de los individuos analizados, utilizando el programa Gel Analyzer.

Objetivo 2: Evaluar el potencial de adaptación de cada una de las especies estudiadas ante un escenario de cambio climático

Forma en que se midió: Análisis de los resultados de riqueza alélica y polimorfismo intra poblacional de cada una de las especies, por medio de estadísticos descriptivos de parámetros genéticos como número de alelos, frecuencia alélica, etc. Un alto número de loci y alto polimorfismo se interpreta como alta diversidad.

Objetivo 3: Identificar las zonas con mayor diversidad genética para cada especie, para establecerlas como prioritarias al realizar planes de manejo y reforestación.

Forma en que se midió: Cuantificación del número de alelos totales de cada uno de los individuos muestreados para determinar el punto con mayores índices de diversidad y/o presencia de alelos raros o exclusivos.

12.6 *Procesamiento y análisis de la información:*

Se calcularon los siguientes estadísticos básicos por especie: número total de alelos observados frecuencia para cada locus, conteo de alelos comunes y alelos raros. Con el programa Popgene 1.32 (Yeh et al., 1999) se obtuvieron el número observado de alelos (N_a), número efectivo de alelos (N_e), y como medidas de variabilidad genética el índice de Shannon y el número y porcentaje de loci polimórficos.

13. Vinculación, difusión y divulgación

Los resultados de investigación se difundirán principalmente por medio de un manuscrito científico. Adicionalmente, se difundirá información por el portal web del instituto de investigaciones y por las redes sociales de CUNZAC.

Se desea agradecer el apoyo de las siguientes personas e instituciones: Lic. Margarita Palmieri, Lic. Ma Renée Álvarez, MsC. Ana Lucía Dubón, Bs Mayra Maldonado y Lic. Ximena Leiva

(Universidad del Valle de Guatemala); Lic. Antonieta Rodas, Lic. Jorge Jiménez (Escuela de Biología, USAC).

14. Productos, hallazgos, conocimientos o resultados:

Colecta de material vegetal

Se colectaron muestras de acículas y brotes de un total de 48 individuos (22 de *P. oocarpa*, 11 de *P. maximinoi* y 15 de *P. tecunumanii*) distribuidos en el área de Guadalupe y sobre el camino que lleva hacia la comunidad Pinalito (figura 1, Anexo 1). Todos los individuos fueron identificados en campo ya que había presencia de conos en todos ellos (Tabla 1, Anexo 2). En todos los casos fue posible colectar entre 100 y 200 g de brotes tiernos, a los cuales se les eliminaron los cojinetes foliares antes ser embolsados y almacenados a -20°C .

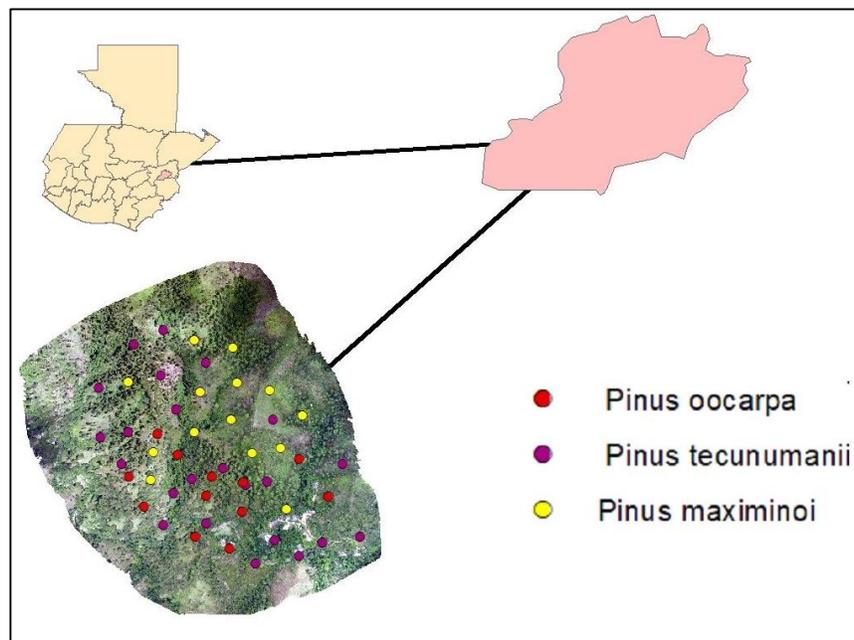


Figura 1. Distribución espacial de los individuos colectados

Tabla 1. Medias de las características utilizadas para la identificación de las especies

Especie	Largo acículas (cm)		Número acículas		Largo cono (cm)		Ancho cono (cm)	
	Literatura	Media	literatura	Media	Literatura	Media	Literatura	Media

<i>Pinus oocarpa</i>	20-25 (30)	22.2	5 (3-4)	5	3-8 (10)	8.2	3-9	8.3
<i>Pinus maximinoi</i>	20-35	31.6	5	5	5-10	9.2	(3)4-8	7
<i>Pinus tecunumanii</i>	16-18 (25)	13.2	4 (3-5)	4	4-7 (7.5)	5.6	3.5-6	4.3

Extracción de ADN

Se optimizó el uso del método CTAB 2X en las condiciones de nuestro laboratorio. Se extrajo ADN íntegro en individuos de las tres especies de pino. A pesar de lo cual no fue posible obtener ADN de tres individuos de *Pinus oocarpa*, los cuales fueron eliminados del presente estudio.

Amplificación de microsatélites y análisis de geles

Inicialmente se trabajaron 4 microsatélites nucleares utilizados previamente para el estudio del género *Pinus*. Uno de ellos (ptTX2142) no amplificó (generó bandas) para ninguna de las especies por lo que fue descartado del presente estudio. La optimización en las condiciones de PCR y tiempos de anillamiento permitió que el resto de iniciadores probados amplificaran exitosamente en 39 de los 45 individuos analizados. Utilizando el software Gel Analyzer se documentaron las bandas obtenidas dentro del rango de 100 y 2,000 pb (Tabla 2) para cada uno de los microsatélites analizados.

Tabla 2. Número de bandas por individuo analizado

Individuo	Especie	Número de alelos			
		ptTX2123	ptTX3025	ptTX3030	Totales
SB73	<i>Pinus oocarpa</i>	3	2	6	11
SB76	<i>Pinus oocarpa</i>	3	2	6	11
SB102	<i>Pinus oocarpa</i>	3	7	5	15
SB72	<i>Pinus oocarpa</i>	2	2	6	10
SB74	<i>Pinus oocarpa</i>	3	4	7	13
SB75	<i>Pinus oocarpa</i>	2	6	7	15
SB77	<i>Pinus oocarpa</i>	2	5	7	14
SB92	<i>Pinus oocarpa</i>	2	6	7	15
SB104	<i>Pinus oocarpa</i>	3	5	6	13

SB105	<i>Pinus oocarpa</i>	3	5	5	13
SB109	<i>Pinus oocarpa</i>	3	3	8	14
SB110	<i>Pinus oocarpa</i>	3	2	4	9
SB111	<i>Pinus oocarpa</i>	2	3	8	13
SB112	<i>Pinus oocarpa</i>	2	5	8	15
SB114	<i>Pinus oocarpa</i>	3	3	8	14
SB115	<i>Pinus oocarpa</i>	3	3	7	13
SB119	<i>Pinus oocarpa</i>	4	3	7	14
SB85	<i>Pinus maximinoi</i>	2	4	6	12
SB86	<i>Pinus maximinoi</i>	2	3	5	10
SB87	<i>Pinus maximinoi</i>	3	4	6	13
SB88	<i>Pinus maximinoi</i>	4	3	5	12
SB89	<i>Pinus maximinoi</i>	3	2	6	11
SB91	<i>Pinus maximinoi</i>	3	3	7	12
SB93	<i>Pinus maximinoi</i>	2	2	7	11
SB94	<i>Pinus maximinoi</i>	3	2	8	13
SB96	<i>Pinus maximinoi</i>	3	4	8	15
SB107	<i>Pinus maximinoi</i>	3	2	7	12
SB79	<i>Pinus tecunumanii</i>	2	6	11	19
SB80	<i>Pinus tecunumanii</i>	2	4	9	15
SB81	<i>Pinus tecunumanii</i>	3	4	9	16
SB82	<i>Pinus tecunumanii</i>	3	4	11	18
SB83	<i>Pinus tecunumanii</i>	4	3	7	14
SB90	<i>Pinus tecunumanii</i>	3	3	5	11
SB95	<i>Pinus tecunumanii</i>	3	3	6	12
SB97	<i>Pinus tecunumanii</i>	3	3	6	12
SB98	<i>Pinus tecunumanii</i>	3	2	8	12
SB100	<i>Pinus tecunumanii</i>	4	5	10	19
SB103	<i>Pinus tecunumanii</i>	3	5	5	13
SB106	<i>Pinus tecunumanii</i>	3	5	5	13

De las tres regiones analizadas, la ptTX3030 es la que muestra una mayor cantidad de alelos frecuentes en todas las especies (4 para *P. oocarpa*, 4 para *P. maximinoi* y 2 para *P. tecunumanii*), mientras que tanto el iniciador ptTX2123 como el ptTX3025 muestran bajas frecuencias en todos los alelos. Los alelos 185 y 194 del ptTX2123, 259 del ptTX3025 y 1200 del ptTX3030 aparecen en todas las especies, por lo que pueden considerarse alelos útiles para el género. *P. oocarpa* comparte 4 alelos (ptTX2123 245 y 303; ptTX3025 191 y 293) con *P. maximinoi* y 8 (ptTX2123 192; ptTX3025 266; ptTX3030 193, 213, 237, 250, 396 y 435) con *P. tecunumanii*, mientras que

P. tecunumanii y *P. maximinoi* comparten 9 (ptTX2123 235, ptTX3030 240, 316, 455y 494; ptTX3030 108, 505, 532 y 1440).

En la tabla tres se describe el tamaño máximo y mínimo de bandas encontrados por región microsatélite en cada una de las especies.

Tabla 3. Tamaños máximos y de alelos documentados para cada especie

Microsatélite	<i>Pinus oocarpa</i>		<i>Pinus maximinoi</i>		<i>Pinus tecunumanii</i>	
	Tamaño min banda (pb)	Tamaño max banda (pb)	Tamaño min banda (pb)	Tamaño max banda (pb)	Tamaño min banda (pb)	Tamaño max banda (pb)
ptTX 2123	183	364	185	360	181	356
ptTX 3025	195	803	240	571	240	522
ptTX 3030	160	1,200	108	1480	108	1700

Las regiones ptTX 2123 y ptTx 3030 presentaron patrones de bandas por debajo de los 100 pb. En el caso del ptTX 2123 únicamente en *P. maximinoi*, mientras que el ptTX 3030 para todas las especies.

Análisis de datos

En la tabla cuatro se presentan los parámetros intrapoblacionales obtenidos por especie, el índice de Shannon para *P. oocarpa* fue de 0.22, para *P. maximinoi* 0.34 y para *P. tecunumanii* 0.31. El número más alto de alelos por individuo se encontró en *P. tecunumanii* (19 alelos), seguido por *P. oocarpa* (15 alelos), quedando en el tercer lugar *P. maximinoi* con 13 alelos. *P. oocarpa* presentó

también el individuo con menos alelos (9) de las tres especies. El número medio de alelos por especie fue de 13.1 para *P. oocarpa*, 12.1 para *P. maximinoi* y 14.5 para *P. tecunumanii*.

La distribución espacial de los individuos con mayor número de alelos por especie se puede observar en la figura 2. La especie que presentó más individuos con alto número de alelos fue *P. oocarpa* (8), seguida por *P. tecunumanii* y *P. maximinoi* con tres individuos cada uno (tabla 5).

Tabla 4. Parámetros obtenidos para las especies de pino analizadas

Especie	No. de individuos analizados	No. total de alelos	No. de alelos por región			No. de alelos frecuentes	Media no. de alelos observados	Media no. alelos efectivos	% loci polimórficos
			ptTX 2123	ptTX 3025	ptTX 3030				
<i>Pinus oocarpa</i>	17	104	21	41	43	16	1.99	1.14	99
<i>Pinus maximinoi</i>	10	55	15	13	27	8	1.98	1.27	98
<i>Pinus tecunumanii</i>	12	73	15	19	39	13	2	1.24	100

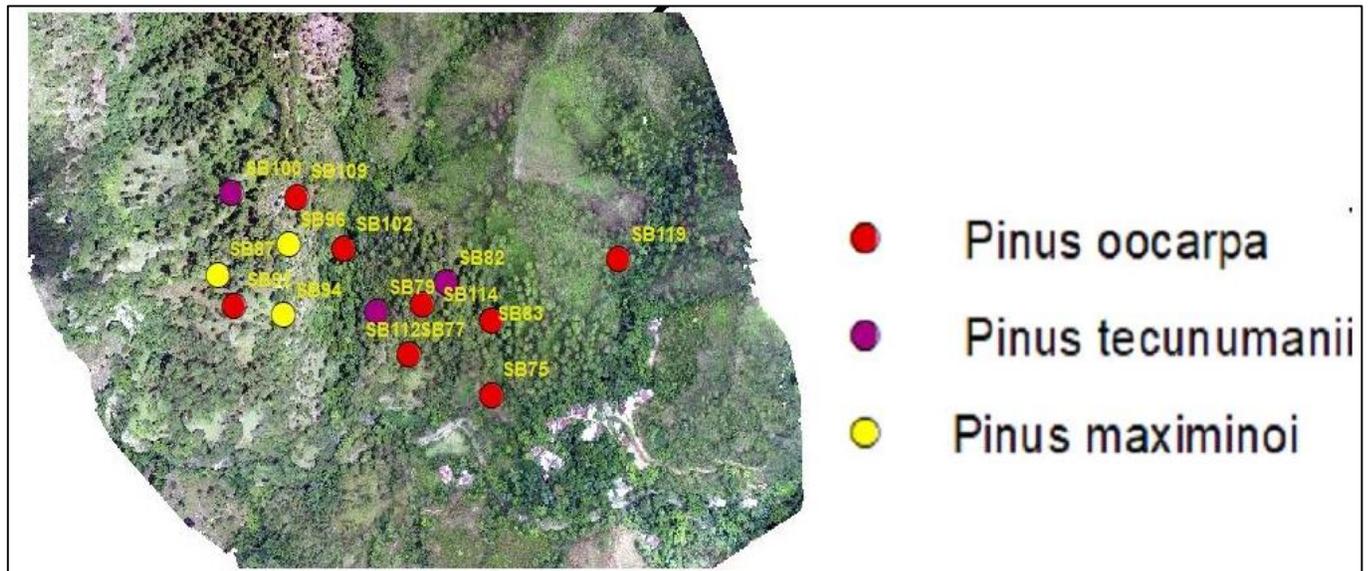


Figura 2. Individuos con mayor número de alelos para las especies evaluadas

Tabla 5. Individuos con mayor número de alelos

Individuo	Especie	Coordenadas*		No. total de alelos
		X	Y	
SB75	<i>Pinus oocarpa</i>	616779.620987	1655431.34627	15
SB77	<i>Pinus oocarpa</i>	616656.58949	1655485.32138	14
SB92	<i>Pinus oocarpa</i>	616397.826473	1655552.52568	15
SB102	<i>Pinus oocarpa</i>	616559.751797	1655628.72583	15
SB112	<i>Pinus oocarpa</i>	616676.168696	1655553.58401	15
SB114	<i>Pinus oocarpa</i>	616779.88557	1655532.4173	14
SB119	<i>Pinus oocarpa</i>	616968.26928	1655614.96747	14
SB109	<i>Pinus oocarpa</i>	616490.959993	1655699.6343	14
SB87	<i>Pinus maximinoi</i>	616372.426422	1655593.80076	13
SB96	<i>Pinus maximinoi</i>	616478.259967	1655635.07584	15

SB94	<i>Pinus maximinoi</i>	616470.851619	1655539.82565	13
SB79	<i>Pinus tecunumanii</i>	616609.758147	1655543.26524	19
SB82	<i>Pinus tecunumanii</i>	616713.739605	1655582.95282	18
SB100	<i>Pinus tecunumanii</i>	616393.593131	1655703.86765	19

*latitud y longitud en coordenadas GTM

15. Análisis y discusión de resultados:

Colecta de material vegetal

El método utilizado para la detección y muestreo de los individuos presentó algunos limitantes debido a los lugares en los que se encuentran los parches de bosque trabajados. En general se han conservado los árboles que se localizan en barrancos o quebradas profundas, por lo que solamente fue posible muestrear individuos de los bordes de los mismos, sin embargo, las características fenotípicas de los individuos tanto de los bordes como de los localizados en el centro de las áreas indican que se encuentran en el mismo rango de edad. En general son parches de bosque maduro, con poca presencia de brinzales o árboles jóvenes (en etapa no reproductiva). Esta característica general fue de gran ayuda para la correcta identificación de las especies en campo. La selección de los individuos muestreados fue a conveniencia ya que, si se encontraba un individuo a la distancia correcta, pero presentaba características morfológicas mezcladas, no se tomaba en cuenta. Esta decisión se tomó debido a que las especies de pino presentan altas tasas de hibridación natural, por lo que la presencia de características morfológicas mezcladas puede indicar que los individuos son híbridos entre dos especies, en el caso de estos bosques parece ser común este fenómeno entre individuos de *P. oocarpa* y *P. maximinoi*. Otra limitante que se presentó en el momento del muestreo fue la altura de los árboles, ya que muchos de ellos presentaban sus primeras ramas a más de 10 metros de altura, por lo cual no pudieron ser muestreados. Sin embargo, fue posible encontrar suficientes individuos con ramas o brotes bajos que pudieron ser utilizados.

Los bosques trabajados son mixtos y presentan como especie dominante el *Pinus oocarpa*, lo cual, debido a su amplia distribución altitudinal y capacidad de adaptarse a diferentes tipos de suelo, es una condición normal en esta especie (Cordero & Boshier, 2004; Instituto Nacional de Bosques, 2017), esta especie se encontró de manera abundante en todas las alturas trabajadas, seguido en la cota más alta, por el *P. tecunumanii*, siendo el menos abundante el *P. maximinoi*, lo cual puede

explicarse debido a que esta última especie es más exigente en cuanto al tipo de suelo en que crece (Instituto Nacional de Bosques, 2017) ocupando preferentemente suelos más profundos y mejor drenados, los cuales son utilizados por los habitantes del lugar para sus siembras. La abundancia de cada especie en el área trabajada se vio reflejada en el número final de individuos colectados por especie.

Amplificación de microsatélites

Los microsatélites propuestos para realizar este estudio han demostrado ser transespecíficos en el género *Pinus*, las regiones ptTX 2123 y 3025 han probado ser altamente polimórficos en *P. oocarpa* y *P. tecunumanii* (Delgado Valerio et al., 2013) sin embargo no se encontraron estudios que documenten su polimorfismo en *P. maximinoi*. En el caso de ptTX3030 se ha utilizado para el análisis de diversas especies (*P. taeda*, *P. patula*, *P. radiata*) (Mendoza Ramírez, 2013) pero no se encontraron estudios que determinen su transespecificidad en las especies trabajadas en el área. Este lo que este es el primer estudio que documenta la amplificación y niveles de polimorfismo de las tres regiones amplificadas (ptTX 2123, ptTX 3025 y ptTX 3030) en *P. maximinoi*. El iniciador ptTX 2142, que también ha sido utilizado con éxito en otras especies de pino, no logró amplificar de manera consistente en ninguna de las especies evaluadas.

Diversidad genética

Para realizar este estudio se calcularon parámetros básicos de diversidad que permiten describir la riqueza y distribución alélica dentro de cada una de las especies. Esta información es valiosa para hacer aproximaciones acertadas de los niveles de diversidad genética de las especies estudiadas, lo cual es a su vez una indicación de la capacidad que tiene cada una de las especies de tener repuestas adaptativas eficaces ante cambios ambientales, una buena base genética, en este caso medida por la cantidad y distribución de alelos en los individuos estudiados, permitirá a la especie tener una respuesta adaptativa ante cambios, drásticos o no, en los patrones de precipitación y temperatura de su hábitat. Las estimaciones de diversidad obtenidas por medio del índice de Shannon (0.22 para *P. oocarpa*, 0.34 para *P. maximinoi* y 0.31 para *P. tecunumanii*) indican que todas las especies presentan moderados índices de variabilidad, y permiten observar que hay una mayor variabilidad intraespecífica en *P. maximinoi* y *P. tecunumanii* que en *P. oocarpa*, a pesar de ser la especie más abundante en el área. Aunque los valores obtenidos están un poco por debajo de los encontradas

para *Pinus pinceana* (0.45) y otras especies de coníferas (0.53), se encuentran en el rango encontrado para *P. pinceana* en México y para el pino blanco (0.3) en Guatemala (Aguirre-Limón et al., 2017; Maselli, 2011). La aproximación obtenida a través del índice de Shannon es respaldada por el número de alelos obtenidos para cada una de las especies estudiadas, así como por el porcentaje de loci polimórficos. Esto puede indicar una reducción de la diversidad general de *P. oocarpa*, quizás debido a que está sujeto a mayor explotación y/o aprovechamiento ya que si madera, a pesar de ser blanda, es muy versátil y tiene una gran cantidad de usos, tanto comerciales como en la economía de subsistencia (Instituto Nacional de bosques, 2017) Durante el trabajo de campo se pudo observar muchos ejemplares quemados en su base, práctica que se realiza para la extracción de ocote, así como ésta, existen numerosas formas de aprovechamiento de la madera que pueden afectar y reducir la diversidad genética de la especie en el área. Sin embargo, según el Instituto Nacional de Bosques (2017), el hecho de que *P. oocarpa* es una de las especies más comunes, y mejor distribuidas en el país, ha permitido que el estado de conservación de sus poblaciones sea bueno, sin embargo, esta afirmación no está respaldada por análisis a nivel molecular del pozo genético para la especie en el país. *P. maximinoi* y *P. tecunumanii* no son aprovechados con la misma intensidad en el área, a pesar de que *P. maximinoi* es una de las especies más utilizadas a nivel regional (Instituto Nacional de Bosques, 2017). Los índices de diversidad encontrados para todas las especies evaluadas pueden ser consecuencia del número de individuos que se encuentran en el área de manera natural. Es necesario hacer la aclaración de que el tamaño de la muestra puede afectar los valores obtenidos, por lo que para afirmar que los valores de diversidad intraespecífica encontrados para *P. oocarpa* son bajos es necesario ampliar la muestra.

En el área estudiada la especie con mayor número de alelos (que se puede interpretar como una aproximación al valor de riqueza alélica) fue *P. tecunumanii*. El cual, a pesar de no tener un gran número de individuos con alto número de alelos, si presento el valor medio más alto (14.5). Esto unido al alto porcentaje de loci polimórficos encontrados (100%) y al número de alelos con una frecuencia menor a 0.1 indican que la especie posee una diversidad que le permitiría responder de manera efectiva ante cambios o estrés ambiental. Un caso parecido se puede observar en *P. oocarpa* (valor medio de alelos de 13.1 y 99% de loci polimórficos), pero no en *P. maximinoi* que parece tener una base genética más reducida (número medio de alelos 12.1, 98% loci polimórficos), lo cual podría disminuir su capacidad de respuesta ante cambios. Para esta especie el ptTX 2123

presenta bandas menores a 100 pb que al ser analizadas podrían mejorar los niveles calculados de riqueza alélica. Con base en los datos obtenidos se puede proponer que en el área estudiada la especie con mayor capacidad de respuesta adaptativa es *P. tecunumanii*, seguida por *P. oocarpa*, quedando en tercer lugar *P. maximinoi*, por lo que se recomienda priorizar esta última especie al realizar planes de manejo y/o reforestación en el área.

La cuantificación del número de alelos totales de cada uno de los individuos muestreados permitió identificar los puntos en que hay más riqueza para cada una de las especies. Al interpretar el alto número de alelos presentes por individuo como un indicador de riqueza alélica, y por lo tanto de alta diversidad, es posible identificar aquellos individuos que presentan un alto interés para ser conservados y para ser utilizados como fuente semillera al desarrollar planes de manejo, reforestación y explotación para cada una de las especies. En el caso de *P. oocarpa* se identificaron 8 individuos (SB75, SB77, SB79, SB82, SB87, SB92, SB94, SB96), mientras que en *P. tecunumanii* y *P. maximinoi* solamente tres para cada uno (SB100, SB102, SB109 y SB112, SB114 y SB119 respectivamente) (figura 2, tabla 4). Al proteger y/o utilizar estos individuos, todos en edad reproductiva, como fuente de semilla para futuras reforestaciones o para el establecimiento de programas de explotación de las especies estudiadas, se asegura el mantenimiento a largo plazo de un pool genético rico para cada una de ellas, evitando la reducción de la capacidad de adaptación de la especie. En el caso de *P. oocarpa* es posible que el mayor número de individuos identificados se deba a que la muestra es más grande (17 individuos, contra 12 y 10 de las otras especies) y la especie mucho más abundante. La distribución de los individuos identificados es homogénea a lo largo del área evaluada, lo cual sugiere que estos parches de bosque están bien conservados y aún mantienen una buena salud genética, al tiempo que presentan una buena capacidad de respuesta y resiliencia ante el cambio climático.

16. Conclusiones y recomendaciones

1. Los microsatélites utilizados son altamente polimórficos para las tres especies evaluadas, las cuales poseen buen nivel de variabilidad genética intraespecífica, lo que indica una buena salud genética de los parches de bosque que se conservan en la microcuenca del río Punilá. El pozo genético que se conserva en esta área indica que al presentarse cambios drásticos en las condiciones ambientales de la zona, estos bosques son capaces de sobrevivir y adaptarse.

2. La especie que presenta mayor potencial de adaptación (respuesta) ante un posible cambio en las condiciones ambientales es *Pinus tecunumanii* (14.5 alelos, 100% loci polimórficos), seguida por *Pinus oocarpa* (13.1 alelos, 99% loci polimórficos) quedando en tercer lugar *Pinus maximinoi* (12.1 alelos, 98% loci polimórficos). Esto debe ser tomado en cuenta para priorizar las poblaciones estudiadas al realizar planes de manejo, explotación y reforestación de cualquiera de las especies analizadas en la microcuenta del río Punilá.
3. Se determinaron 14 individuos con alto número de alelos (SB75, SB77, SB79, SB82, SB87, SB92, SB94, SB96, SB100, SB102, SB109, SB112, SB114 y SB119). Estos individuos constituyen una valiosa herramienta para establecer planes de manejo y reproducción de las especies estudiadas ya que al ser utilizados como fuente de germoplasma, para establecer semilleros se está asegurando la conservación de un pool genético amplio, con lo cual se reduce la posibilidad de endogamia y mala adaptación en ambientes cambiantes.
4. Las regiones microsatélite ptTX2123, ptTX2530 y ptTX3030 son transferibles a nivel de especies del género *Pinus* y pueden ser utilizadas para la evaluación genética intraespecífica y a nivel de individuos, de poblaciones de *Pinus oocarpa*, *Pinus maximinoi* y *Pinus tecunumanii*, constituyendo una importante herramienta para la toma de decisiones informada al realizar planes de adaptación y resiliencia de dichas especies.

Recomendaciones

- Se recomienda aumentar el número de individuos analizados por especie, así como el número de regiones microsatélite a utilizar para evaluar la diversidad genética de las especies estudiadas.
- Incluir microsatélites cloroplásticos para evaluar la diversidad genética de las especies estudiadas.
- Muestrear poblaciones de pino de áreas aledañas para comparar los niveles de diversidad existentes fuera de la microcuenta del río Punilá.

17. Impacto esperado

Se obtuvieron los primeros datos de transferibilidad y polimorfismo para las regiones microsatélite utilizadas, adicionalmente se generaron las primeras aproximaciones a los niveles de diversidad

genética de *Pinus oocarpa*, *Pinus tecunumanii* y *Pinus maximinoi* en el área, esta información servirá de base para la optimización de más marcadores moleculares que puedan ser utilizados en el estudio de la diversidad genética de los pinos de la microcuenca del río Punilá así como para la identificación de individuos que presenten niveles altos de diversidad y que pueden ser utilizados como fuente de semilla en planes de manejo, explotación y/o reforestación con estas especies.

18. Referencias

Aguirre-Limón, V., Alanís-Flores, G., González-Rojas, J. I., Fores-Suárez, A., & Favela-Lara, S. (2017). Variación genética de *Pinus pinceana* Gordon evidencia de conectividad en poblaciones fragmentadas. *Revista Mexicana de ciencias forestales*, 8(43), 39-63.

Alfonso-Corrado, C., Campos Contreras, J., Sánchez-García, G., Monsalvo-Reyes, A., & Clark-Tapia, R. (2014). Manejo forestal y diversidad genética de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl & Cham en Sierra Juárez Oaxaca. *Madera y Bosques*, 20(2), 11-22.

Arzate-Fernández, A.M., Gutiérrez-González, G., & Heredia-Bobadilla, R. L. (2016). *Diversidad genética de dos especies de coníferas en el Nevado de Toluca: una alternativa de conservación*. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca.

Barrios, S. (2004). *Diversidad genética del pino blanco (Pinus ayacahuite Ehren.) en el bosque comunal de Totonicapán, Guatemala* (Tesis de pregrado). Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala.

Bernier, P., & Schoene, D. (2009). La adaptación de los bosques y su ordenación al cambio climático: una visión de conjunto. *Unasylva* 231/232(60), 5-11.

Cordero, J., & Boshier, D. (2004). *Arboles de Centroamerica: un manual para extensionistas*. CATIE/OFI.

Delgado, D., Fingan, B., Martin, M., Acosta, M., Carrillo, F., Hernández, T., Bejarano, L., Nieto, V., Lara, D., & Ribalaygua, J. (2016). *Análisis de la vulnerabilidad al cambio climático de*

bosques de montaña en Latinoamérica: un punto de partida para su gestión adaptativa.

Turrialba, C.R.: CATIE

Delgado Valerio, P., Piñero, D., Jardón B. L., & Chi M. (2011). Genetic variation and demographic contraction of the remnant populations of Mexican Caribbean pine (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*: Pinaceae). *Annals of Forest Science*, 68(1), 121-128.

Delgado Valerio, P., Nuñez Medrano, J., Rocha Granados, M. C., & Muñoz Flores, H. J. (2013). Variación genética de dos áreas semilleras de pino establecidas en el estado de Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 4(18), 104-115.

Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 2, 13-15.

Enríquez, E., Delgado-Valerio, P., García Magaña, J., & Molina Sánchez, A. (2019). Diversidad genética y conservación de pinos nativos de la cuenca del río Cupatitzio, en Michoacán. *Revista Mexicana De Ciencias Forestales*, 10(52).

<https://doi.org/https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i52.410>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2003). Guatemala frente al cambio climático. Serie Centroamericana de Bosques y Cambio Climático.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2015). Coping with climate change-the roles of genetic resources for food and agriculture. Roma.

Farjon, A., Pérez de la Rosa J. A., & Styles, T.B. (1997). Guía de campo de los pinos de México y América Central. Royal Botanic Gardens, Kew University of Oxford.

Feliu, E., García, G., Gutiérrez, L., Abajo, B., Mendizabal, M., Tapia, C., & Alonso, A. (2015). *Guía para la elaboración de Planes Locales de Adaptación al Cambio Climático*. Oficina Española de Cambio Climático. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid.

Furnier, G. R. (2004). *Métodos para medir variación genética en las plantas*. En: Manejo de recursos genéticos forestales. H. J. Vargas, V. Bermejo & F.T. Leding (eds.). Colegio de postgraduados, Montecillos y Comisión Nacional Forestal, Jalisco.

Jiménez, P., & Collada, C. (2000). Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación. *Investigación Agraria Sistemas y Recursos Forestales*, 2, 237-248.

Huang, L., Deng, X., Li, R., Xia, Y., Bau, G., Siddique K., & Guo, P. (2018). A fast silver staining protocol enabling simple and efficient detection of SSR markers using a Non-denaturing polyacrylamide gel. *Journal of Visualized Experiments*, 134, 57192.

<https://doi.org/10.3791/57192>

Instituto de Agricultura, Recursos Naturales y Ambiente de la Universidad Rafael Landívar. (2008). Biotecnología, tendencias y prioridades de la investigación en los recursos fitogenéticos y el sector forestal: Potenciales líneas de investigación en Guatemala.

Instituto Nacional de Bosques. (2017). Pino de ocote (*Pinus oocarpa* schiede ex Schltdl). Paquete tecnológico forestal. Guatemala: Cano Morales, E. E.

Instituto Nacional de Bosques. (2017). Pino candelillo (*Pinus maximinoi* H.E. Moore). Paquete tecnológico forestal. Guatemala: Cano Morales, E. E.

Instituto Nacional de Bosques e Instituto de Agricultura, Recursos Naturales y Ambiente de la Universidad Rafael Landívar. (2012). Primer Informe Nacional sobre el Estado de los Recursos Genéticos Forestales en Guatemala.

Locatelli, B. (2010). Forests and Adaptation to Climate Change: Challenges and Opportunities. En: G. Mery, P. Katila, G. Galloway, R. Alfaro, M. Kanninen, M. Lobovikov, & J. Varjo (Eds.), *Forest and Society: Responding to Global drivers of change*. FRO, pp.21-42, 2010, IUFRO World Series Volume 25, 978-3-901347-93- 1. ffcirad-00699347f

Magrin, G.O. (2015). Adaptación al cambio climático en América Latina y el Caribe. Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). Naciones Unidas.

Maselli, S. (2011). Análisis y cuantificación de la diversidad genética, dentro de la estrategia de manejo y conservación del pino blanco (*Pinus ayacahuite* Ehren.) en la república de Guatemala (Proyecto FODECYT No. 032-2008). *Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología, SENACYT*.

Melgar, W. (2003). Estado de la diversidad biológica de los árboles y bosques de Guatemala. *Documentos de Trabajo: Recursos Genéticos Forestales*. FGR/53S Servicio de Desarrollo de Recursos Forestales, Dirección de Recursos Forestales, FAO, Roma. (Inédito).

Mendoza Ramírez, E. N. (2015). *Optimización de microsatélites en Pinus spp. en el laboratorio de genética molecular UNAN-LEÓN* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua

Ortíz-Medrano, A., Moreno-Letelier, A., & Piñero, D. (2008). Fragmentación y expansión demográfica en las poblaciones mexicanas de *Pinus ayacahuite* var. *ayacahuite*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 83, 25-36.

Plomion, C., Chagné, D., Pot, D., Kumar, S., Wilcox, P. L., Burdon, R. D., Prat, D., Peterson, D. G., Paiva, J., Chaumeil, P., Vendramin, G. G., Sebastiani, F., Nelson, C. D., Echt, C. S., Savolainen, O., Kubisiak, T. L., Cervera, M. T., de María, N., & Islam-Faridi, M. N. (2007). Pines. USDA Forest Service / UNL Faculty Publications. 44. Recuperado de <https://digitalcommons.unl.edu/usdafsfacpub/4>

Ramírez Enríquez, E., Delgado Valerio, P., García Magaña, J. J., & Molina Sánchez, A. (2019). Diversidad genética y conservación de pinos nativos de la cuenca del río Cupatitzio, en Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 10(52).

Rebolledo Camacho, V. (2010). *Variación y estructura genética del complejo de Pinus caribaea Morelet (Pinaceae)* (tesis de posgrado). Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., Mérida Yucatán.

Sistema Guatemalteco de Ciencias del Cambio climático (SGCCC). (2019). Primer reporte de evaluación del conocimiento sobre cambio climático en Guatemala: Resumen para tomadores de decisión. Castellanos, E.J., Bámaca, E., Paiz-Estévez, A., Escribá, J., Rosales-Alconero, M. y Santizo, A. (eds). Ciudad de Guatemala: Editorial Universitaria UVG.

Schlötterer, C. (2000). Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*, 109, 365-371.

Smith, D.N., & Devey, M. E. (1994). Occurrence and inheritance of microsatellites in *Pinus radiata*. *Genome*, 37, 977-983.

Vasquez-Lobo, A., & Morales, A. (2014). Microsatélites. En: *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*. En A. Cornejo, A. Serrato, B. Rendón, & M. G. Rocha-Munive (eds.). México.

Vilanova, E. (2011). Adaptación de los bosques tropicales al cambio climático: una oportunidad para la investigación interdisciplinaria. *Revista Forestal Venezolana*, 55(11), 93-101.

Villalobos A., Pérez de la R, J.A., Arias, A., & Rajora O. P. (2014). Cross-species transferability of eastern white pine (*Pinus strobus*) nuclear microsatellite markers to five Mexican white pines. *RGenetics and Molecular Research*, 13(3), 7571-7576.

Yeh, F.C., Yang, R.C., & Boyle, T. (1999). PopGene version 1.32. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. University of Alberta, Edmonton.

https://sites.ualberta.ca/~fyeh/popgene_download.html

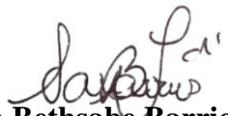
19. Apéndice

Listado de los integrantes del equipo de investigación (en una sola hoja)

Contratados por la Dirección General de Investigación

Nombre	Categoría	Registro de Personal	Pago		Firma
			SI	NO	
Sara Bethsabe Barrios de León	Coordinador	20161476	X		
Jonathan Mario Ortega España	Asistente de investigación I	20200428	X		

Guatemala 26 de febrero del 2021


Dra. Sara Bethsabe Barrios de León
Coordinadora Proyecto de Investigación


ng. MARN 
Coordinador General de Programas
DIGIUSAC
Nombre y firma Coordinador(a)
Programa Universitario de Investigación


ng. MARN 
Coordinador General de Programas
DIGIUSAC
Nombre y firma
Coordinador General de Programas

20. Anexos

Anexo 1. Coordenadas de puntos de muestreo

Numero colecta	Especie	x	y
SB72	<i>Pinus oocarpa</i>	616391.968	1655879.82
SB73	<i>Pinus oocarpa</i>	616615.202	1656025.71
SB74	<i>Pinus oocarpa</i>	616743.297	1656000.01
SB75	<i>Pinus oocarpa</i>	616779.621	1655431.35
SB76	<i>Pinus oocarpa</i>	616656.589	1655485.32
SB77	<i>Pinus oocarpa</i>	616635.282	1655844.8
SB78	<i>Pinus tecunumanii</i>	616868.79	1655852.53
SB79	<i>Pinus tecunumanii</i>	616609.758	1655543.27
SB80	<i>Pinus tecunumanii</i>	616741.322	1655749.88
SB81	<i>Pinus tecunumanii</i>	616616.763	1655706.49
SB82	<i>Pinus tecunumanii</i>	616713.74	1655582.95
SB83	<i>Pinus tecunumanii</i>	616789.94	1655525.01
SB84	<i>Pinus tecunumanii</i>	616908.164	1655651.97
SB85	<i>Pinus maximinoi</i>	616981.181	1655767.51
SB86	<i>Pinus maximinoi</i>	616812.268	1655635.05
SB87	<i>Pinus maximinoi</i>	616372.426	1655593.8
SB88	<i>Pinus maximinoi</i>	616759.889	1655878.32
SB89	<i>Pinus maximinoi</i>	616928.392	1655441.45
SB90	<i>Pinus tecunumanii</i>	616737.114	1655302.29
SB91	<i>Pinus maximinoi</i>	616621.732	1655344.51
SB92	<i>Pinus oocarpa</i>	616397.826	1655552.53
SB93	<i>Pinus maximinoi</i>	617068.948	1655484.92
SB94	<i>Pinus maximinoi</i>	616470.852	1655539.83
SB95	<i>Pinus tecunumanii</i>	616448.474	1655445.68
SB96	<i>Pinus maximinoi</i>	616478.26	1655635.08
SB97	<i>Pinus tecunumanii</i>	616300.122	1655688.49
SB98	<i>Pinus tecunumanii</i>	616292.89	1655859.59
SB99	<i>Pinus maximinoi</i>	616410.52	1656011.55
SB100	<i>Pinus tecunumanii</i>	616393.593	1655703.87
SB101	<i>Pinus tecunumanii</i>	616512.003	1655384.64
SB102	<i>Pinus oocarpa</i>	616559.752	1655628.73
SB103	<i>Pinus tecunumanii</i>	616888.491	1655333.82
SB104	<i>Pinus oocarpa</i>	617117.545	1655598.22
SB105	<i>Pinus oocarpa</i>	616881.321	1655752.4
SB106	<i>Pinus tecunumanii</i>	616824.906	1655251.9
SB107	<i>Pinus maximinoi</i>	617049.785	1655324.08

SB108	<i>Pinus oocarpa</i>	616501.791	1655903.25
SB109	<i>Pinus oocarpa</i>	616490.96	1655699.63
SB110	<i>Pinus oocarpa</i>	616511.257	1656061.26
SB111	<i>Pinus oocarpa</i>	616861.904	1655536.42
SB112	<i>Pinus oocarpa</i>	616676.169	1655553.58
SB113	<i>Pinus oocarpa</i>	616657.862	1655390.62
SB114	<i>Pinus oocarpa</i>	616779.886	1655532.42
SB115	<i>Pinus oocarpa</i>	616547.307	1655492.75
SB116	<i>Pinus oocarpa</i>	616970.663	1655278.94
SB117	<i>Pinus oocarpa</i>	616655.145	1655946.12
SB118	<i>Pinus oocarpa</i>	616553.557	1655785.02
SB119	<i>Pinus oocarpa</i>	616968.269	1655614.97

Anexo 2. Medidas tomadas para la identificación de las especies

Individuo	Especie	Acículas		Conos	
		Largo (cm)	Número	Largo (cm)	Ancho (cm)
SB73	<i>Pinus oocarpa</i>	22	5	8	9
SB76	<i>Pinus oocarpa</i>	25	5	8	8
SB102	<i>Pinus oocarpa</i>	25	5	8	9
SB72	<i>Pinus oocarpa</i>	23	5	8	8
SB74	<i>Pinus oocarpa</i>	25	5	9	9
SB75	<i>Pinus oocarpa</i>	24	5	8	5
SB77	<i>Pinus oocarpa</i>	22	5	8	7
SB92	<i>Pinus oocarpa</i>	20	5	10	12
SB104	<i>Pinus oocarpa</i>	25	5	8	9
SB105	<i>Pinus oocarpa</i>	25	5	8	9
SB109	<i>Pinus oocarpa</i>	23	5	8	9
SB110	<i>Pinus oocarpa</i>	24	5	9	9
SB111	<i>Pinus oocarpa</i>	24	5	9	8
SB112	<i>Pinus oocarpa</i>	25	5	8	9
SB114	<i>Pinus oocarpa</i>	22	5	8	7
SB115	<i>Pinus oocarpa</i>	25	5	8	7
SB119	<i>Pinus oocarpa</i>	24	5	8	7
SB85	<i>Pinus maximinoi</i>	30	5	6	4
SB86	<i>Pinus maximinoi</i>	35	5	9	7
SB87	<i>Pinus maximinoi</i>	30	5	10	8
SB88	<i>Pinus maximinoi</i>	30	5	10	8
SB89	<i>Pinus maximinoi</i>	28	5	9	6

SB91	<i>Pinus maximinoi</i>	30	5	10	8
SB93	<i>Pinus maximinoi</i>	35	5	10	8
SB94	<i>Pinus maximinoi</i>	35	5	9	7
SB96	<i>Pinus maximinoi</i>	30	5	9	6
SB107	<i>Pinus maximinoi</i>	33	5	10	8
SB79	<i>Pinus tecunumanii</i>	17	4	5	4
SB80	<i>Pinus tecunumanii</i>	18	4	6	5
SB81	<i>Pinus tecunumanii</i>	18	4	5	4
SB82	<i>Pinus tecunumanii</i>	18	4	6	4
SB83	<i>Pinus tecunumanii</i>	17	4	6	5
SB90	<i>Pinus tecunumanii</i>	17	4	6	6
SB95	<i>Pinus tecunumanii</i>	18	4	5	4
SB97	<i>Pinus tecunumanii</i>	18	4	6	5
SB98	<i>Pinus tecunumanii</i>	17	4	6	5
SB100	<i>Pinus tecunumanii</i>	18	4	5	4
SB103	<i>Pinus tecunumanii</i>	17	4	5	4
SB106	<i>Pinus tecunumanii</i>	18	4	6	6

Anexo 3. Fotografías conos de las especies estudiadas



a.



b.



c.



d.



e.



f.

Conos de *Pinus oocarpa* (a. cerrado, b. abierto), *Pinus maximinoi* (c. cerrado, d. abierto) y *Pinus tecunumanii* (e. cerrado, f. abierto)

Anexo 4. Fotografías del proceso

Puntos de colecta



Guadalupe



Camino desde Guadalupe hasta Pinalito

Colecta de material y toma de datos en campo

T



Medición de diámetro de copa

Corte de ramillas con brotes

Muestreo de conos y
brotes

Macerado y extracción de ADN



a.



b.



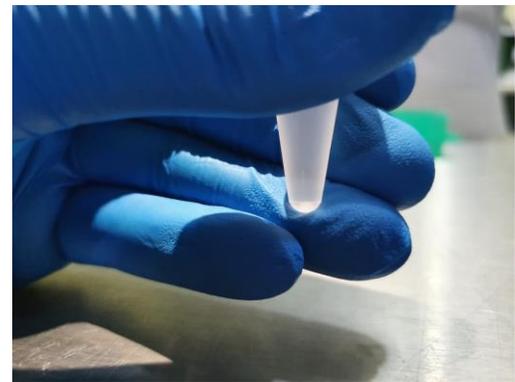
c.



d.



e.



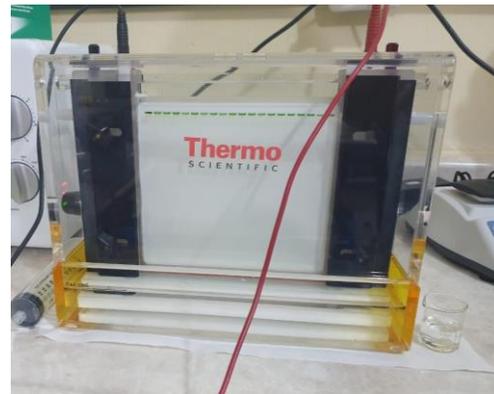
f.

a. Pesaje de muestras; b. Preparación de CTAB 2X, c. Adición de Etanol a las muestras; d. centrifugado de las muestras; e. separación de fases; f. obtención de pellet de ADN

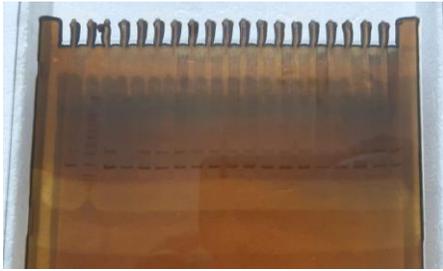
Electroforesis vertical y tinción de geles



Armado de la cámara vertical

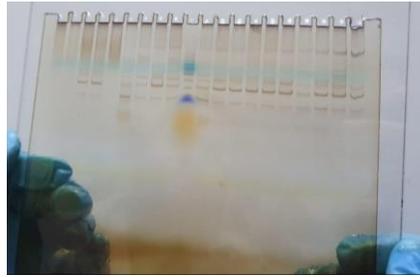


Electroforesis en geles de poliacrilamida 6%



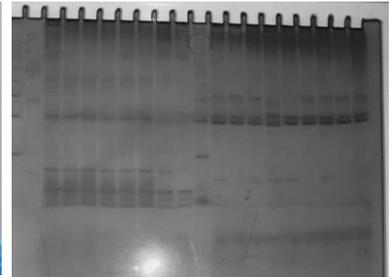
gel ptTX 2123

ptTX 3025



gel

gel ptTX 3030





Universidad de San Carlos de Guatemala

CENTRO UNIVERSITARIO DE ZACAPA - INSTITUTO DE INVESTIGACIONES

Manuel Alejandro Barrios Izás, Dr.
*Coordinador de Investigación
Instituto de Investigaciones
Centro Universitario de Zacapa*

Señor Director
Dr. Félix Alan Douglas Aguilar Carrera
Director General de Investigación
Universidad de San Carlos de Guatemala

Señor Director:

Adjunto a la presente el informe final del proyecto **B13CU-2020: “Diversidad genética en bosques de pino de la microcuenca Río Punilá: base para elaborar planes de adaptación al cambio climático”**, coordinado por la Dra. Sara Bethsabe Barrios de León y avalado por el Instituto de Investigaciones del Centro Universitario de Zacapa, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Este informe final fue elaborado con base en la guía de presentación de la Dirección General de Investigación, el cual fue revisado su contenido en función del protocolo aprobado, por lo que esta unidad de investigación da la aprobación y aval correspondiente.

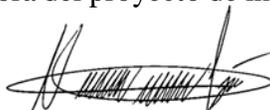
Así mismo, la coordinadora del proyecto, se compromete a dar seguimiento y cumplir con el proceso de revisión y edición establecido por Digi del **informe final y del manuscrito científico**. El manuscrito científico debe enviarse, por la coordinadora del proyecto, para publicación al menos en una revista de acceso abierto (*Open Access*) indexada y arbitrada por expertos en el tema investigado.

Sin otro particular, suscribo atentamente.
Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”




Sara Bethsabe Barrios de León
Coordinadora del proyecto de investigación



Firma y sello
Manuel Alejandro Barrios Izás
Coordinador del Instituto de Investigaciones-CUNZAC